

Formazione tecnica sul saggio Xpert® HCV VL Fingerstick

Esclusivamente per l'utilizzo secondo la Direttiva Europea sui dispositivi medico-diagnostici in vitro (CE-IVD)



Programma di formazione

- **Xpert® HCV VL Fingerstick**
 - Utilità clinica
 - Reagenti
 - Prelievo del campione
 - Conservazione e manipolazione del kit
 - Preparazione della cartuccia
 - Controlli qualità
 - Analisi dei risultati
- **Discussione**



Obiettivi del programma di formazione

- **Al termine della formazione, l'operatore sarà in grado di:**
 - Conservare e maneggiare correttamente il kit della cartuccia Xpert[®] HCV VL Fingerstick
 - Seguire le adeguate precauzioni di sicurezza del laboratorio
 - Prelevare e trasportare i campioni di analisi adeguati
 - Preparare una cartuccia ed eseguire il saggio
 - Refertare i vari risultati generati dal software
 - Comprendere la strategia di controllo del saggio

La soluzione Cepheid



- Rileva e quantifica
 - RNA dell'HCV
 - Risultati entro un intervallo di linearità da 100 a 100.000.000 RNA dell'HCV IU/ml*
- Controlli a bordo per ciascun campione
 - Adeguatezza del volume dei campioni (SVA)
 - Controllo per la verifica della sonda (PCC)
 - Standard quantitativi interni (IQS) alto (H) e basso (L)
- Risultati in circa 60 minuti
- Sistema della cartuccia a circuito chiuso per ridurre al minimo il rischio di contaminazione
- Risultati on-demand
- Accesso casuale

* Il saggio è standardizzato rispetto al 4° standard internazionale dell'Organizzazione Mondiale della Sanità (OMS) per l'HCV (codice NIBSC: 06/102).6

Uso previsto

Xpert HCV VL Fingerstick (FS) è un saggio di reazione a catena della polimerasi dopo retrotrascrizione (RT-PCR) *in vitro* per il rilevamento e la quantificazione dell'RNA del virus dell'epatite C (HCV) in sangue intero capillare umano, prelevato con puntura del dito, in EDTA e sangue intero venoso umano in EDTA proveniente da individui infettati dall'HCV, utilizzando i sistemi di strumentazione automatizzati GeneXpert®.

Il saggio Xpert HCV VL Fingerstick è previsto per l'utilizzo come ausilio nella **diagnosi iniziale** in individui a elevato rischio di infezione da HCV o in individui positivi all'anti-HCV. Il rilevamento di RNA dell'HCV indica che il virus si sta replicando e, pertanto, costituisce la **prova di infezione attiva**.

Il saggio Xpert HCV VL Fingerstick è previsto per l'utilizzo come ausilio nella **gestione dei pazienti infetti da HCV sottoposti a terapia antivirale**. Il test misura i livelli di RNA dell'HCV in qualsiasi momento durante la viremia e durante il trattamento, e può essere utilizzato per **prevedere la risposta virologica sostenuta e quella non sostenuta alla terapia contro l'HCV**.

Uso previsto - Osservazioni

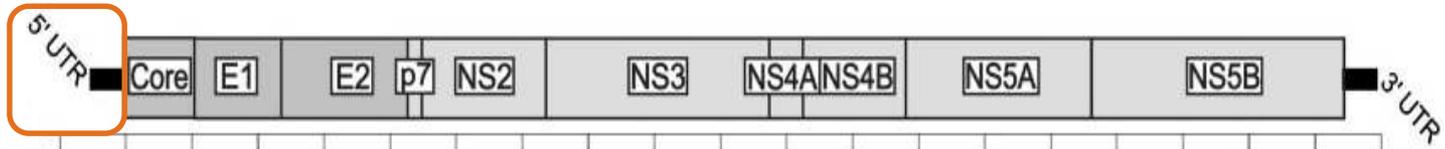
- Il saggio Xpert HCV VL Fingerstick è previsto per l'uso **da partedi professionisti di laboratorio o di operatori sanitari con formazione specifica.**
- Il saggio **non** è destinato a essere utilizzato come test di screening dell'HCV per i donatori di sangue.
- Il saggio è in grado di quantificare l'RNA dell'HCV nell'intervallo da **100 a 100.000.000 IU/ml**

Bersagli

Bersagli

- Standard quantitativi interni IQS-H e IQS-L
- La regione più conservata del genoma RNA dell'HCV

Il saggio è formulato per rilevare 6 genotipi (1-6)



Requisiti del saggio

Sistemi GeneXpert

- Software GeneXpert Dx versione **4.7 b** o successiva
- Software Xpertise versione **6.4** o successiva

Kit per i test (CE-IVD)

- GXHCV-FS-CE-10

Prelievo del campione

Safety-Lancet Super monouso, 1,5 mm (Sarstedt, P/N: 85.1018) o simile, per prelevare almeno 100 µl di sangue capillare - Non fornita
Minivette® POCT 100 µl K3 EDTA per il prelievo di sangue capillare – Ordinabile a Cepheid
Provette EDTA per sangue venoso da venipuntura – Non fornite

Altri materiali

- Dispositivi di protezione individuale (DPI)
- Candeggina 1:10
- Etanolo al 70% o etanolo denaturato al 70%
- Salviette disinfettanti

Facoltativo

- Gruppo di continuità/dispositivo di protezione da sovratensioni
- Stampante

Buona prassi di laboratorio

Dispositivi di protezione individuale (DPI)

- Indossare camici da laboratorio e guanti puliti
- Cambiarsi i guanti tra un campione e l'altro durante il trattamento

Banco di laboratorio dedicato

- Pulire regolarmente le superfici di lavoro con:
 - ✓ Candeggina per uso domestico con diluizione 1:10
 - ✓ Soluzione di etanolo al 70%
- Dopo la pulizia, assicurarsi che le superfici di lavoro siano asciutte

Conservazione dei campioni di analisi, dei campioni e dei kit

- Conservare i campioni di analisi e i campioni lontano dal kit in modo da prevenirne la contaminazione

Apparecchiature

- Usare puntali per pipetta con filtro, se consigliato
- Seguire i requisiti del produttore in merito alla calibrazione e alla manutenzione delle apparecchiature

Manipolazione del kit



Contenuto del kit Xpert HCV Viral Load Fingerstick

Numero di catalogo	GXHCV-FS-CE-10
Cartucce per kit	10
CD del kit	File di definizione del saggio (Assay Definition File, ADF)
	Istruzioni per l'importazione del saggio
	Foglietto illustrativo (PDF)
Conservazione	2-28 °C



Kit di 10 cartucce

Le cartucce contengono sostanze chimiche pericolose. Per ulteriori informazioni, consultare il foglietto illustrativo e la scheda dati di sicurezza.

Conservazione e manipolazione del kit Xpert HCV VL Fingerstick

- Conservare le cartucce Xpert HCV VL Fingerstick a 2-28 °C
- Attenersi alle procedure di sicurezza del proprio istituto per l'utilizzo e la manipolazione di sostanze chimiche e campioni biologici.
- Non utilizzare dispositivi di prelievo non convalidati da Cepheid
- Aprire il coperchio della cartuccia del saggio solo quando si aggiunge il campione, chiudere il coperchio e procedere con il trattamento
- Iniziare il test entro 4 ore dall'introduzione del campione nella cartuccia

Avvertenze e precauzioni

- Non agitare la cartuccia
- Non usare una cartuccia che...
 - appare bagnata, presenta perdite o se la guarnizione del coperchio sembra essere rotta
 - appare danneggiata
 - è caduta dopo essere stata estratta dalla confezione
 - è caduta o è stata agitata dopo l'aggiunta del campione
 - ha una provetta di reazione danneggiata
 - è già stata usata: ciascuna cartuccia è monouso e serve per l'esecuzione di un solo test
 - è scaduta
- Non riutilizzare le pipette monouso usate



Avvertenze e precauzioni

- I campioni biologici di analisi, i dispositivi di prelievo e le cartucce usate devono essere trattati come potenziali veicoli di agenti infettivi e richiedono l'adozione di precauzioni standard.
- Attenersi alle procedure di smaltimento dei rifiuti ambientali del proprio istituto per il corretto smaltimento delle cartucce usate e dei reagenti non utilizzati. Questi materiali possono essere considerati rifiuti chimici pericolosi per il cui smaltimento è necessario attenersi a specifiche procedure nazionali o regionali.



- Se i regolamenti nazionali o regionali non forniscono istruzioni chiare sul corretto smaltimento, i campioni biologici di analisi e le cartucce usate devono essere smaltiti in base alle linee guida dell'OMS (Organizzazione Mondiale della Sanità) sulla manipolazione e lo smaltimento dei rifiuti medici

Raccolta, trasporto
e conservazione dei
campioni di analisi



Prelievo di campioni di analisi – Sangue capillare

- **Dispositivo per la puntura** consigliato (non fornito da Cepheid)
 - **Safety-Lancet** Super monouso, 1,5 mm
 - Riferimento Sarstedt, P/N: 85.1018 o simile
- **Dispositivo di prelievo** obbligatorio (disponibile da Cepheid)
 - **Minivette® POCT** (100 µl)
- **Processo:**
 - Riscaldare il dito
 - Disinfettare l'area prima di prelevare il campione
 - Pungere il dito con la lancetta di sicurezza e prelevare il sangue secondo le istruzioni del produttore



Immagine: Brochure informativa Sarstedt

Istruzioni dettagliate nelle prossime diapositive

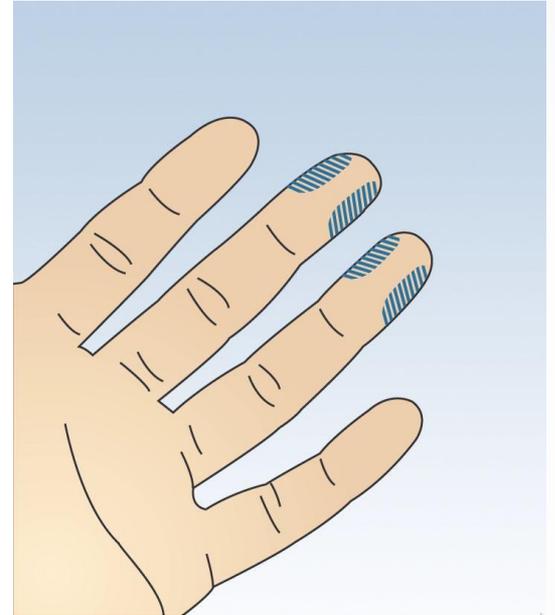
Istruzioni del produttore

Il riscaldamento del sito di puntura aumenta il flusso sanguigno **fino a 7 volte** il valore normale

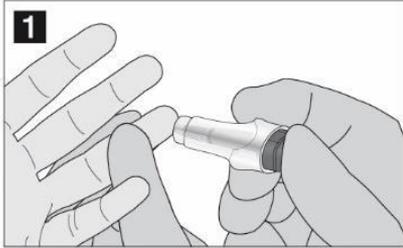
- Avvolgere la mano del paziente in un panno caldo (39 °C - 40 °C)

oppure

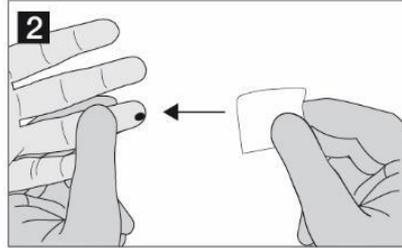
- Tenere la mano del paziente sotto acqua corrente a 39 °C - 40 °C.



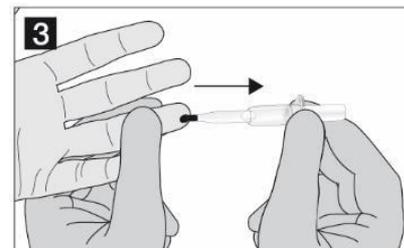
Prelievo di sangue capillare



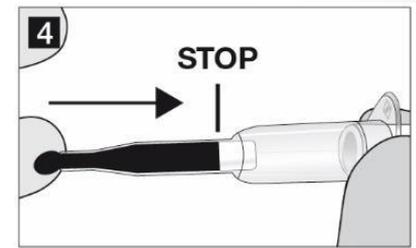
1 Pulire il sito di puntura con un disinfettante. Lasciare asciugare finché il disinfettante non si è completamente asciugato. Pungere il dito con la lancetta di sicurezza.



2 Pulire la prima goccia. Tenere il sito di puntura in posizione orizzontale. Evitare sbavature della goccia di sangue.



3 Toccare la goccia di sangue con la punta del Minivette® POCT e tenerla in posizione orizzontale.



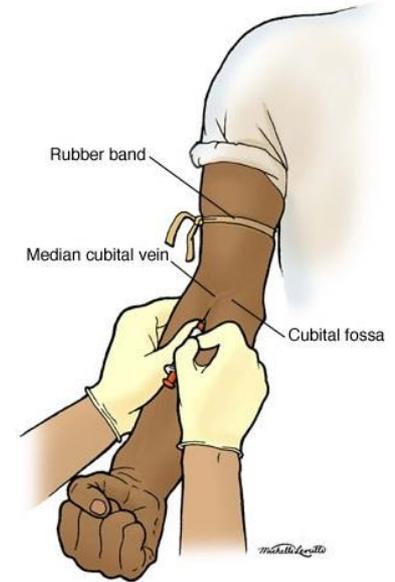
4 Attendere finché il sangue non ha raggiunto il filtro all'altra estremità della punta del capillare.

Il foro di sfiato dell'aria all'estremità del pistone non deve essere coperto né spinto verso il basso.

Video: <https://www.sarstedt.com/en/products/new-products/video-minivetter-poct/>

Prelievo del campione di analisi – Sangue venoso

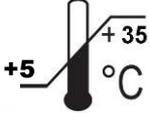
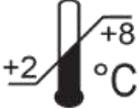
- Raccogliere **il sangue venoso** secondo le istruzioni del produttore della provetta EDTA
- Capovolgere immediatamente la provetta per 8-10 volte per miscelare e garantire un'anticoagulazione adeguata del campione



MedicoInfo.in

Trasporto e conservazione dei campioni di analisi

Immagine: MarketLab.com

CAMPIONE	Temperatura (°C)	Durata della conservazione
 Sangue capillare in EDTA		Entro e non oltre 15 minuti dal prelievo
 Sangue venoso in EDTA		72 ore
		24 ore

Preparazione della cartuccia



Preparazione della cartuccia – Sangue capillare da Minivette

NOTA:

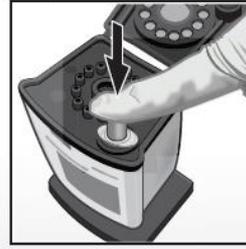
- Raccogliere 100 μ l di campione di sangue intero usando Minivette.
- Prima di iniziare il test, consentire alla cartuccia di stabilizzarsi a temperatura ambiente.



1. Applicare sul lato della cartuccia un'etichetta con l'ID del campione.



2. Aprire il coperchio della cartuccia.



3. Inserire completamente il Minivette nella camera del campione della cartuccia e premere lentamente verso il basso il pistone per erogare il campione di sangue intero.



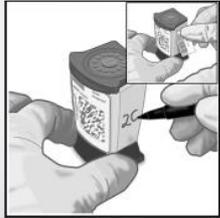
4. Chiudere il coperchio della cartuccia.

5. Avviare il test entro l'arco di tempo specificato nel foglietto illustrativo.

Preparazione della cartuccia – Sangue venoso nella provetta EDTA

NOTA:

- Raccogliere il sangue (EDTA) da venipuntura secondo le istruzioni del produttore.
- Prima di iniziare il test, consentire alla cartuccia di stabilizzarsi a temperatura ambiente.



1. Applicare sul lato della cartuccia un'etichetta con l'ID del campione.



2. Aprire il coperchio della cartuccia.



3. Miscelare il sangue venoso contenuto nella provetta di raccolta con EDTA capovolgendo la provetta almeno 7 volte.



4. Pipettare 100 µl di sangue venoso dalla provetta di raccolta con una micropipetta automatica. Per evitare errori di pipettaggio si può utilizzare la preumidificazione del puntale.



5. Posizionare la pipetta nella camera del campione e trasferire lentamente 100 µl di sangue venoso dalla provetta di raccolta alla camera del campione della cartuccia.



6. Chiudere il coperchio della cartuccia.

7. Avviare il test entro l'arco di tempo specificato nel foglietto illustrativo.

Esecuzione di un'analisi

1 Creare l'analisi

GeneXpert



Iniziare il test entro **4 ore** dall'introduzione del campione nella cartuccia.

GeneXpert
Infinity

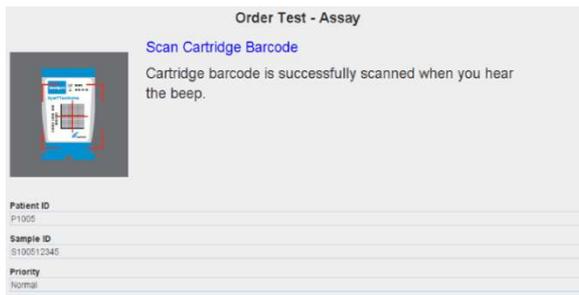


Porre la cartuccia sul dispositivo trasportatore dopo l'aggiunta del campione alla cartuccia stessa

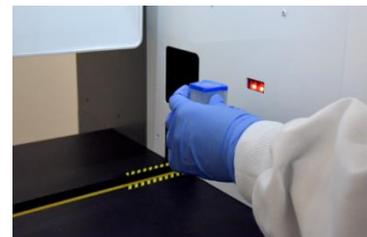
2 Eseguire la scansione dei messaggi con codici a barre: Cartuccia/ ID del paziente e/o ID del campione



Per impostazione predefinita, non fare clic su Immissione manuale (Manual Entry) o Annulla (Cancel)



3 Eseguire la scansione della cartuccia



Per i dettagli completi su come eseguire un test, consultare il foglietto illustrativo e i manuali dell'operatore GeneXpert Dx o Xpertise Dx.

Creare un test sul software GeneXpert Dx

4 Compilare i campi come richiesto

5 Il protocollo del saggio viene selezionato automaticamente

6 Il modulo viene selezionato automaticamente

NON MODIFICARLO!!!

7 Fare clic su Avvia analisi (Start Test)

8 Una spia verde lampeggerà sul modulo. Caricare la cartuccia nel modulo e chiudere lo sportello

Create Test

Patient ID
Sample ID
Patient ID 2
Last Name

Name
Select Assay Xpert HCV VL Fingerstick

Select Module A3

Reagent Lot ID* 16119 Expiration Date* 2016/1/17

Test Type Specimen

Sample Type Other Other S

Notes

Start Test Scan Cartridge Barco



Per creare un test sul software Xpertise Dx

4 Compilare i campi come richiesto

Order Test - Test Information

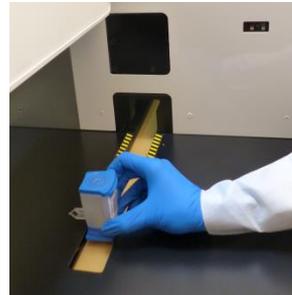
Patient ID patientid	
Sample ID sampleid	
Last Name patient	First Name id
Assay* Xpert HCV VL Fingerstick	
Reagent Lot ID* 12102	Cartridge S/N* 282769448
Expiration Date* 2018/11/04	Priority Normal
Test Type Specimen	
Sample Type Other	Other Sample Type
Notes	

5 Il protocollo del saggio viene selezionato automaticamente

6 Fare clic su INVIA (SUBMIT)



7 Posizionare la cartuccia sul nastro trasportatore



Protocollo automatizzato Xpert



Controlli qualità



- **Controllo del sistema – Verifica dello stato**

- Il controllo del sistema verifica i sistemi ottici, la temperatura dei moduli e l'integrità meccanica di ciascuna cartuccia.
- Se i controlli del sistema vengono respinti, il sistema segnalerà un risultato ERRORE (ERROR).

- **Controlli qualità del saggio**

- Ciascuna cartuccia Xpert è un dispositivo di test autonomo
- Cepheid ha ideato appositi metodi molecolari con controlli interni che permettono al sistema di rilevare specifiche modalità di errore in ciascuna cartuccia
 - Adeguatezza del volume dei campioni (SVA)
 - Controlli per la verifica della sonda (PCC)
 - Standard quantitativi interni IQS-L e IQS-H per la quantificazione del virus nell'RNA dell'HCV

Controlli di qualità interni in dettaglio

- **Adeguatezza del volume dei campioni (SVA)**

Verifica che il volume corretto di campione venga aggiunto alla cartuccia

- **Controlli per la verifica della sonda (PCC)**

- Prima della fase PCR, il segnale di fluorescenza viene misurato su tutte le sonde e confrontato con le impostazioni predefinite per monitorare

- reidratazione delle microsfere
- integrità delle sonde
- riempimento della provetta di reazione
- stabilità del colorante

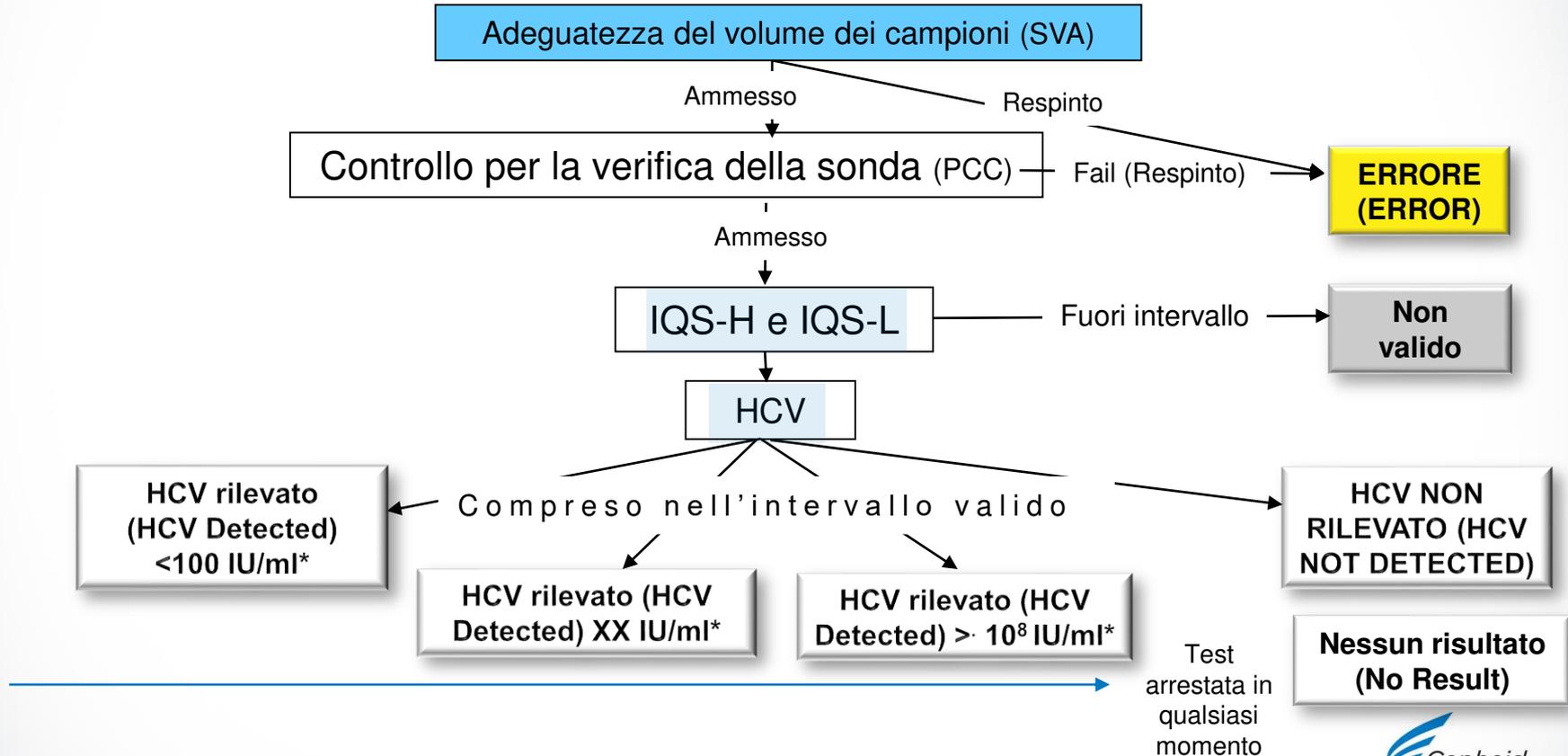
- **Standard quantitativi interni (IQS)**

- 2 controlli Armored RNA® non infettivi, non specifici per HCV sotto forma di microsfere essiccate
- Chiamati IQS Low (10^3 copie /ml) e IQS High (10^6 copie/ml)
- I controlli IQS-H e IQS-L sono calibrati secondo il 4° standard internazionale OMS per HCV NAT
- Verifica che il campione sia stato analizzato correttamente
- Verifica la lisi, la presenza dell'organismo e rileva l'inibizione
- I valori di fluorescenza e Ct IQS basso (Low) e IQS alto (High) devono essere sempre compresi nell'intervallo valido

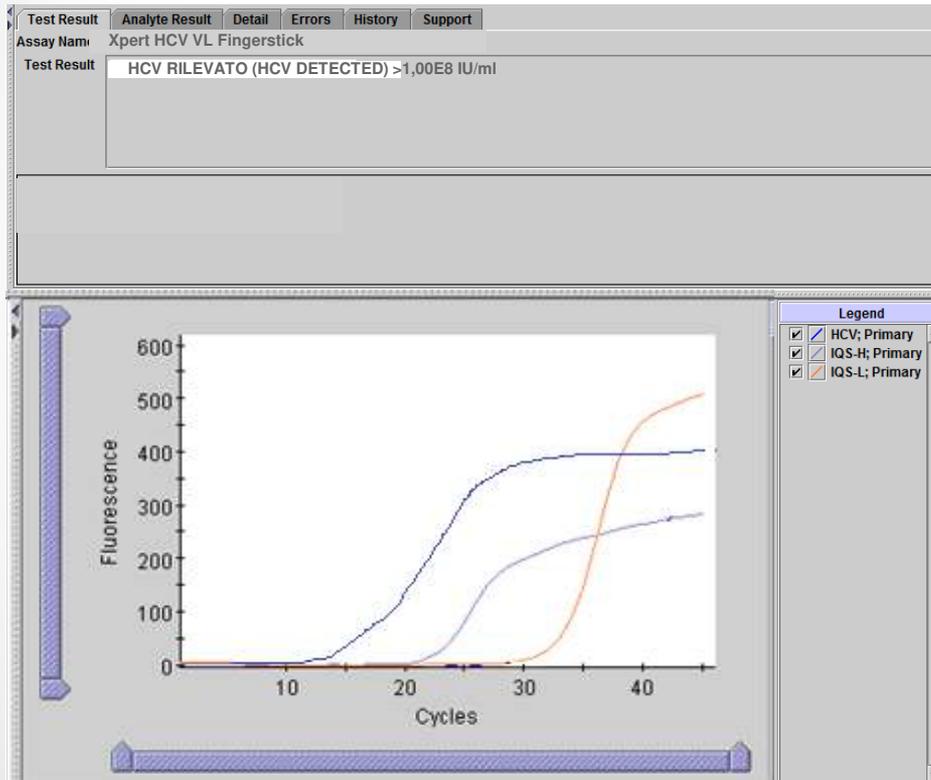
Interpretazione dei risultati



Algoritmo di interpretazione dei risultati



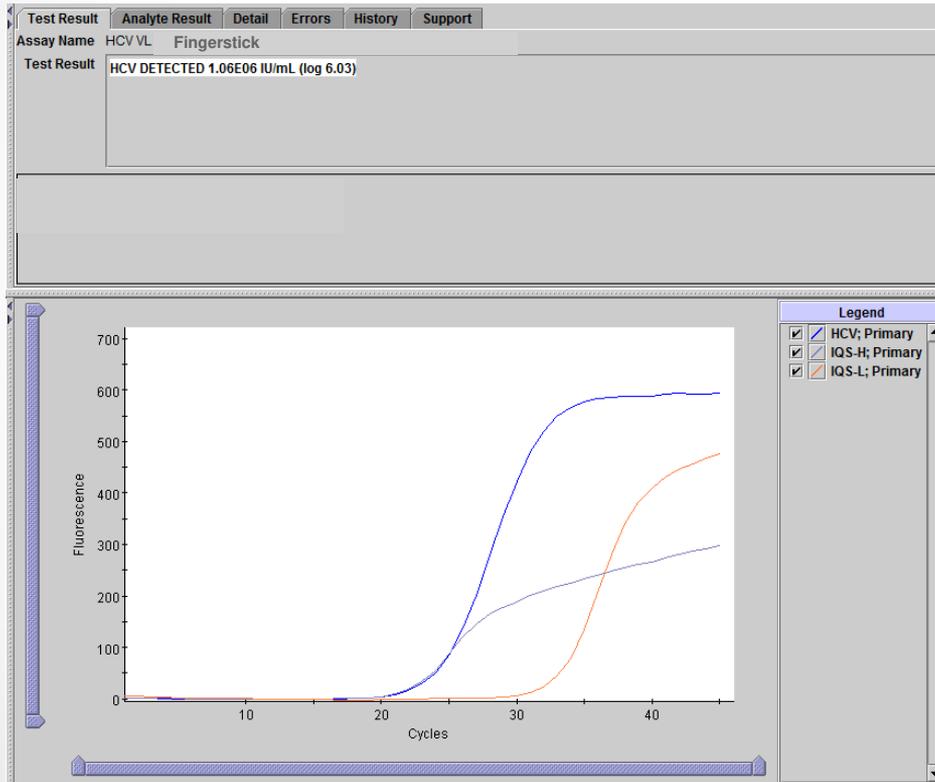
HCV RILEVATO (HCV DETECTED) >1,00E08 IU/ml



Il bersaglio HCV VL è rilevato **al di sopra** dell'intervallo di misurazione analitico

- IQS-H: AMMESSO
 - L'IQS-H ha un valore Ct compreso nell'intervallo valido
- IQS-L: AMMESSO
 - L'IQS-L ha un valore Ct compreso nell'intervallo valido
- Verifica della sonda: AMMESSO

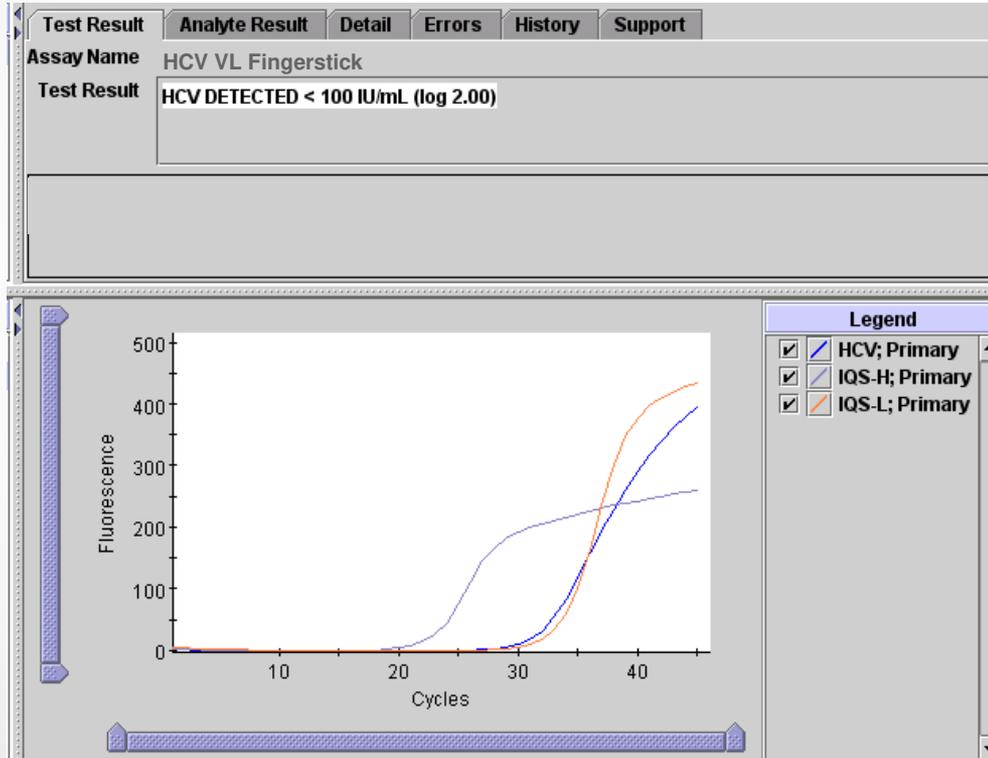
HCV RILEVATO (HCV DETECTED) $1,06 \times 10^6$ IU/ml



L'RNA dell'HCV ha un valore quantitativo **entro** l'intervallo di misurazione analitico.

- IQS-L e IQS-H – AMMESSO (PASS)
- Verifica della sonda - AMMESSO (PASS) (Probe Check - PASS); tutti i risultati della verifica della sonda sono validi

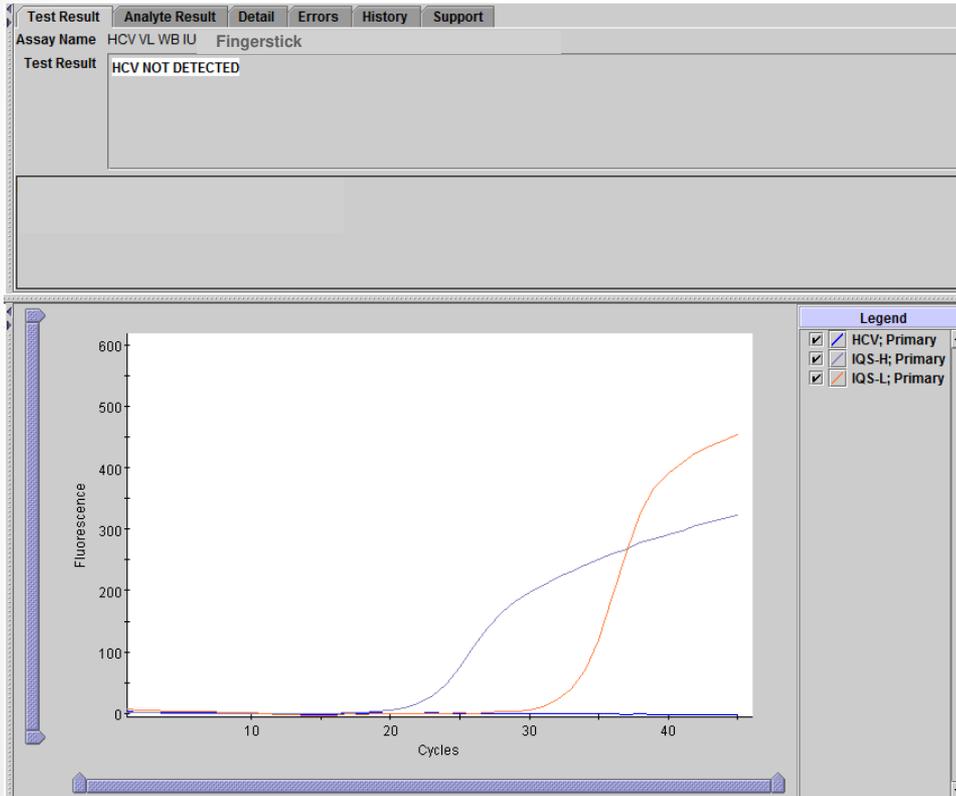
HCV VL RILEVATO <100 IU/ml (HCV VL DETECTED < 100 IU/ml)



Il bersaglio HCV VL è rilevato **al di sotto** dell'intervallo di misurazione analitico

- IQS-H: AMMESSO (PASS)
 - L'IQS-H ha un valore Ct compreso nell'intervallo valido
- IQS-L: AMMESSO (PASS)
 - L'IQS-L ha un valore Ct compreso nell'intervallo valido
- Verifica della sonda: AMMESSO (PASS)

HCV NON RILEVATO (HCV NOT DETECTED)



Il bersaglio RNA dell'HCV
non è rilevato

- IQS-L e IQS-H – AMMESSO (PASS)
- Verifica della sonda (Probe Check) - AMMESSO (PASS); tutti i risultati della verifica della sonda sono validi

Rapporto sull'andamento dei pazienti

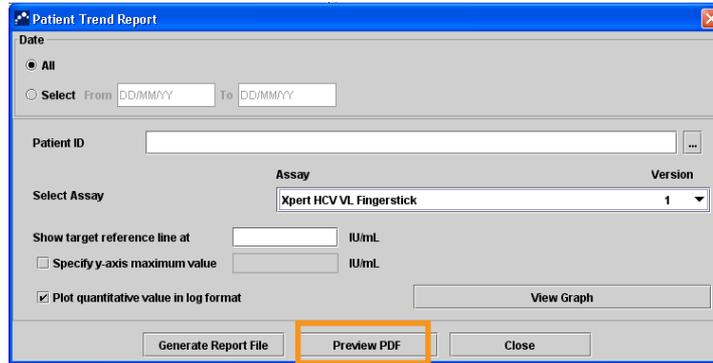
- È possibile monitorare uno specifico paziente durante uno specifico arco di tempo creando un rapporto delle tendenze

1 Selezionare Rapporti (Reports) e Rapporto delle tendenze del paziente (Patient Trend Report)



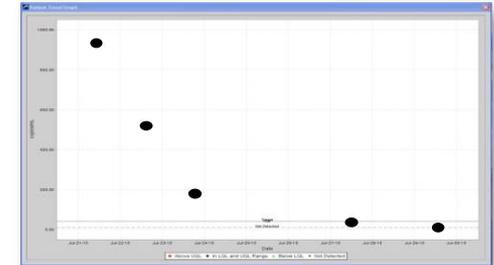
2 Selezionare

- Intervallo di tempo
- ID paziente
- Saggio
- Preferenze per il bersaglio



4 Visualizzare in anteprima il rapporto

5 Visualizzare il rapporto



Risoluzione dei problemi



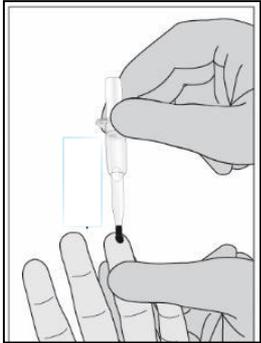
Fattori che influiscono negativamente sui risultati

- Prelievo non corretto del campione di analisi
 - Non sono state valutate le prestazioni con altri dispositivi di prelievo e altri tipi di campioni di analisi
- Trasporto o conservazione non corretti del campione di analisi prelevato
 - Per le istruzioni sulla corretta manipolazione, consultare il foglietto illustrativo.
- Procedura di analisi non corretta
 - Modifiche alle procedure di analisi, errori tecnici e scambio di campioni possono influire sui risultati dell'analisi
 - La stretta osservanza delle istruzioni del foglietto illustrativo è necessaria per evitare risultati erranei
- Sostanza interferente
 - In presenza di sostanze interferenti si possono ottenere risultati falsi negativi o risultati non validi

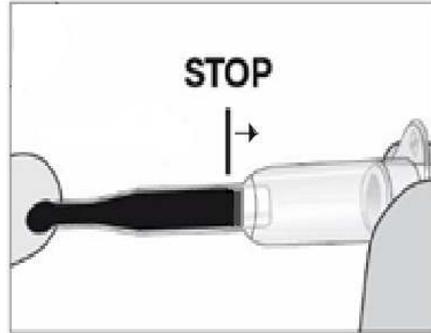
Errore di prelievo del campione



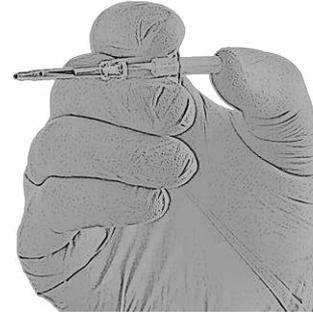
Non posizionare il Minivette verticalmente



Non aspirare nel filtro



Non bloccare il pistone durante il prelievo



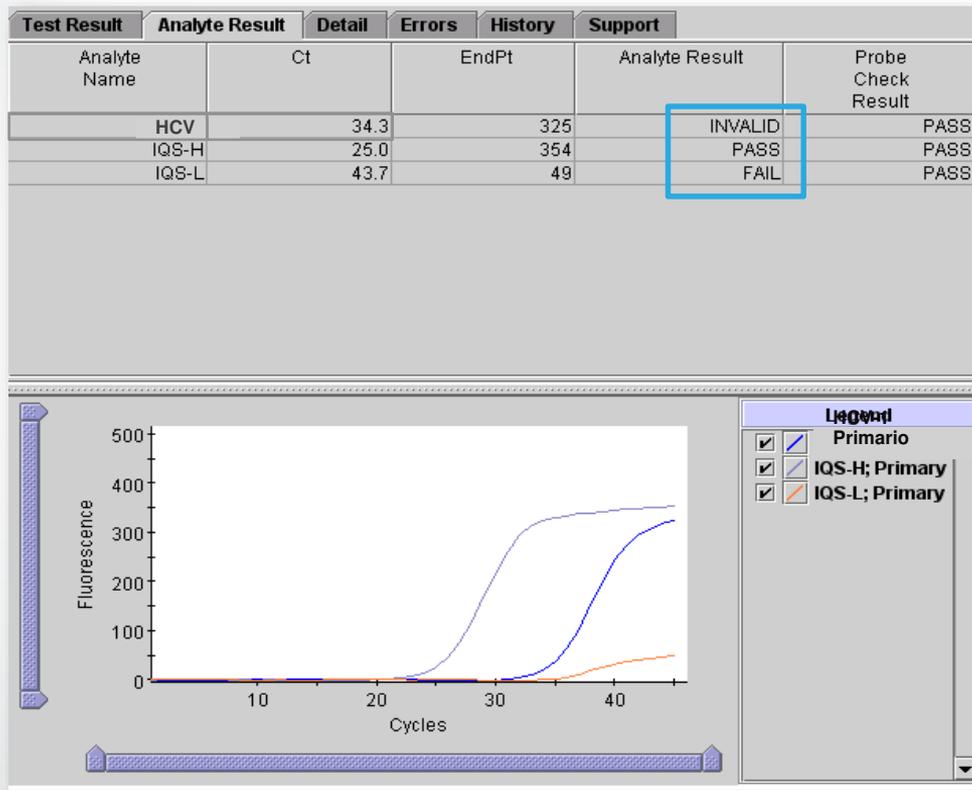
Non conservare il Minivette >15 minuti



Non toccare il dito
(toccare soltanto la goccia
di sangue)

Risultato NON VALIDO (INVALID)

INVALID



La presenza o l'assenza del bersaglio HCV non può essere determinata

- IQS-H e/o IQS-L: RESPINTO (FAIL)

Le soglie del ciclo del controllo quantitativo interno non rientrano nell'intervallo valido

- Verifica della sonda: AMMESSO (PASS)

- Causa

- Prelievo non corretto del campione (ad esempio, utilizzo di una provetta contenente eparina)
- Preparazione non corretta del campione
- Conservazione non corretta delle cartucce
- Inefficiente trattamento del campione nella cartuccia
- Microsfere primer/sonda o enzimatiche mancanti
- Presenza di inibitori nel campione

- Soluzione

- Ripetere il test con una nuova cartuccia e un nuovo campione

NESSUN RISULTATO (NO RESULT)

NO RESULT

The screenshot shows the software interface for the Xpert HCV VL Fingerstick assay. At the top, there are several tabs: 'Test Result', 'Analyte Result', 'Detail', 'Melt Peaks', 'Errors', 'History', 'Messages', and 'Support'. The 'Test Result' tab is selected. Below the tabs, the 'Assay Name' is 'Xpert HCV VL Fingerstick'. The 'Test Result' field displays 'NO RESULT' in a blue box. Below this, there is a section for 'For In Vitro Diagnostic Use Only.' and a footer that says '<No Data Available>'. The interface is in a light gray color scheme.

- Non è possibile determinare la presenza o l'assenza di HCV.
- NESSUN RISULTATO (NO RESULT) indica che i dati raccolti sono insufficienti.
- IQS-H o IQS-L: NESSUN RISULTATO (NO RESULT)
- Verifica della sonda: NA (non applicabile)
- **Causa**
 - Il test è stato interrotto con il pulsante di arresto del test
 - Guasto elettrico
- **Soluzione**
 - Ristabilire l'alimentazione elettrica
 - Ripetere il test con una nuova cartuccia

Procedura di ripetizione del test

1



Gettare la cartuccia usata

Per lo smaltimento delle cartucce seguire le linee guida di sicurezza del proprio istituto

2



Procurarsi il campione residuo. Miscelare secondo quanto indicato nel foglietto illustrativo

Se il volume del campione residuo è insufficiente o se ripetendo il test si continua ad ottenere un risultato NON VALIDO (INVALID), ERRORE (ERROR) o NESSUN RISULTATO (NO RESULT), prelevare un nuovo campione

3



Procurarsi una nuova cartuccia

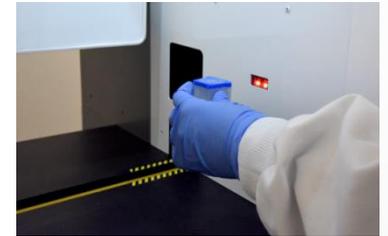
Applicare appositamente sulla nuova cartuccia una etichetta con la dicitura "Ripetizione del test"

Trattare il campione come indicato nel foglietto illustrativo

4



Eseguire il test sul sistema GeneXpert



Assistenza Tecnica

- Prima di contattare l'Assistenza Tecnica di Cepheid, raccogliere le seguenti informazioni:
 - Nome del prodotto
 - Numero di lotto
 - Numero di serie del sistema
 - Messaggi di errore (se presenti)
 - Versione del software e, se pertinente, codice riportato sull'etichetta di servizio del computer
- Registrare il reclamo online utilizzando il seguente link <http://www.cepheid.com/us/support> : *Creare una richiesta di assistenza*

Regione	Telefono	E-mail assistenza tecnica
USA	+1 888 838 3222	techsupport@cepheid.com
Australia e Nuova Zelanda	+ 1800 130 821 (AU) + 0800 001 028 (NZ)	techsupportANZ@cepheid.com
Brasile e America Latina	+55 11 3524 8373	latamsupport@cepheid.com
Cina	+86 021 5406 5387	techsupportchina@cepheid.com
Francia	+33 563 825 319	support@cepheideurope.com
Germania	+49 69 710 480 480	support@cepheideurope.com
India, Bangladesh, Bhutan, Nepal e Sri Lanka	+91 11 48353010	techsupportindia@cepheid.com
Italia	+39 800 902 567	support@cepheideurope.com
Sud Africa	+27 861 22 76 35	support@cepheideurope.com
Regno Unito	+44 3303 332 533	support@cepheideurope.com
Belgio e Paesi Bassi	+33 563 825 3319	support@cepheideurope.com
Altri Paesi in Europa, Medio Oriente e Africa	+ 33 563 825 319 + 971 4 253 3218	support@cepheideurope.com

Grazie.



www.Cepheid.com

